

研 究 推 進 ユ ニ ッ ト
R e s e a r c h P r o m o t i o n U n i t

先端研究開発室（宇留野グループ）

Advanced Research Initiative

准 教 授：宇留野 武人

Associate Professor : Takehito Uruno, Ph.D.

当グループは、脂質代謝を介した組織免疫制御機構の解明を通じて、炎症・がん・感染症などに共通する生体防御応答の理解とその応用展開を目指している。特に、硫酸化脂質代謝物やリン脂質代謝産物といった生体脂質が、免疫細胞の活性化や組織炎症応答をどのように制御しているかを分子・細胞・個体レベルで明らかにすることを主要な研究テーマとしている。

2025 年度は、宇留野武人（准教授）を中心に研究基盤の整備を進めるとともに、長崎大学熱帯医学研究所、理化学研究所、国立長寿医療研究センターなどとの共同研究体制を構築し、脂質代謝物を介した免疫制御を軸とした研究を推進している。

A. コレステロール硫酸（CS）による炎症制御機構

コレステロール硫酸（Cholesterol sulfate; CS）は、コレステロールが硫酸化された脂質代謝物の一つであり、皮膚や腸管などの上皮組織に高濃度に存在する。宇留野は、CS が T 細胞や好中球の機能を調節し、眼における組織炎症応答を制御する内因性代謝物であることを初めて報告した（Sakurai et al., Sci Signal., 2018）。その後、当研究所免疫遺伝学分野との共同研究により、CS を介した炎症制御機構は、腸管（Morino et al., Front Immunol., 2023）や皮膚（Morino et al., Front Immunol., 2025）など複数の組織においても機能していることを明らかにした。

さらに、腫瘍免疫との関連についても解析を行なっている。大腸がんにおいては、CS 産生酵素である SULT2B1b の発現亢進と患者予後不良との間に相関が認められ、CS 産生が増加した腫瘍部位では腫瘍組織内への CD8 陽性 T 細胞の浸潤が抑制され、腫瘍免疫応答の抑制を介して腫瘍進展に寄与する可能性が示唆された（Tatsuguchi et al., Int Immunol., 2022）。また、SULT2B1b を標的とした阻害剤探索およびその腫瘍免疫応答への影響についても検討を進めている（Tatsuguchi et al., Biochem Biophys Res Commun., 2022）。

現在、長崎大学熱帯医学研究所との共同研究により、赤痢アメーバ感染症における CS 代謝の役割について明らかにしつつある。また、理化学研究所との共同研究では、アメーバ由来硫酸化酵素の構造解析および阻害剤探索を進めており、宿主-病原体相互作用における硫酸化代謝の役割解明を目指している。これらの成果は、脂質硫酸化代謝が組織炎症応答を調節する新たな免疫制御機構である可能性を示唆するものである。今後は、空間トランスクリプトーム解析や組織レベルのメタボロミクス解析などの手法を組み合わせることで、CS を含む脂質代謝が組織局所の免疫応答制御にどのように関与するかを明らかにする

ことを目指している。

B. PLD1-PA 軸による好中球細胞外トラップ (NETs) 形成制御と血栓症

好中球細胞外トラップ (Neutrophil extracellular traps; NETs) は、活性化好中球からヒストンや抗菌酵素を結合したクロマチン DNA が細胞外に放出され、病原体捕捉に寄与する生体防御機構である。一方で、過剰な NETs 形成は、血栓症、敗血症、自己免疫疾患など病態悪化に関与することが知られている。当グループでは、リン脂質代謝と好中球機能の関係に着目し、NETs 形成の分子機構について研究を進めている。

本研究では、リン脂質代謝酵素であるホスホリパーゼ D1 (PLD1) に着目し、PLD1-ホスファチジン酸 (Phosphatidic acid; PA) 代謝軸が好中球機能に与える影響について解析した。PLD1 欠損マウス由来好中球では、活性酸素種 (Reactive oxygen species; ROS) 産生が障害されており、NETs 形成が抑制されることを明らかにした。また、PLD1 欠損マウスでは、LPS 誘導炎症モデルにおいて ROS 産生が抑制され、さらに深部静脈血栓 (Deep vein thrombosis; DVT) モデルにおいて血栓形成が有意に軽減された。これらの結果は、PLD1-PA 軸が NETs 形成および免疫血栓形成の制御に関与する可能性を示した (Aihara et al., Front Immunol., 2025)。

また、当研究所メタボロミクス分野との共同研究により、刺激後の好中球のリピドーム解析を実施した結果、PLD1 欠損好中球では PA 分子種のアシル鎖依存的な産生抑制が生じることを明らかにし、脂質分子種レベルでの好中球機能制御の可能性について検討を進めている。これらの成果は、NETs 関連病態の新たな分子標的の創出につながる可能性がある。

C. 硫酸化酵素アッセイ系の確立と基質・阻害剤探索

硫酸化反応は、薬物代謝、ホルモン・脂質代謝、異物代謝などに関与する重要な生体反応であり、ヒトおよびマウスには約 13 種類の硫酸基転移酵素 (Sulfotransferase; SULT) が存在する。SULT 酵素は多様な基質を硫酸化することで分子機能を変化させることが知られており、代謝制御および疾患病態との関連が注目されている。

従来、SULT 酵素の基質同定や阻害剤探索には、放射性同位体 (RI) 標識基質を用いた酵素アッセイ系や質量分析法が用いられてきたが、これらの手法は費用やスループットの面で制約があり、大規模化合物スクリーニングには適さないという課題があった。

そこで本研究では、蛍光基質を用いた新規アッセイ系を構築し、硫酸化反応をリアルタイムかつ高感度・ハイスループットで検出できる系を確立した (投稿準備中)。本アッセイ系を各種化合物ライブラリーと組み合わせることで、ヒト SULT ファミリーを対象としたハイスループットな基質探索および阻害剤スクリーニングが可能となった。現在、CS 産生酵素である SULT2B1b を含む複数の SULT 酵素サブタイプについて機能解析、基質探索および阻害剤スクリーニングを進めている。本アッセイ系は、硫酸化代謝の機能解析および阻

害剤探索を加速する研究基盤となることが期待される。

業績目録

原著論文

1. Aihara R., Takahashi M., Morino K., Matsubara K., Kunimura K., Nishikimi A., Izumi Y., Bamba T., Fukui Y., Uruno T. (Oct 2025)
Phospholipase D1 is a critical mediator of neutrophil extracellular trap formation and venous thrombosis.
Front Immunol. 16:1666184.
2. Morino K., Akiyoshi S., Matsubara K., Sugiura Y., Izumi Y., Yotsumoto S., Yamamura K., Maeda R., Takahashi M., Nakata K., Bamba T., Nakahara T., Sakata D., Uruno T., Fukui Y., Kunimura K. (Oct 2025)
Sulfotransferase SULT2B1 contributes to the epithelial-immune microenvironment homeostasis in imiquimod-induced psoriatic dermatitis.
Front Immunol. 16:1632426.

学会発表

1. 相原 良亮, 宇留野 武人, 北村 知昭. (2026/3/19-20)
深部静脈血栓症における PLD1 依存的 NETs 形成の役割. (ポスター発表)
第 25 回日本再生医療学会総会, 神戸.

先端研究開発室（ゲノミクスグループ）

Advanced Research Initiative

准 教 授：柴田 弘紀

Associate Professor : Hiroki Shibata, Ph.D.

当研究室では、疾病や適応進化と深い関わりを持つ遺伝的多様性の解析を行うことにより、遺伝情報制御機構や分子進化の観点から生命現象を理解することを目指している。疾患原因遺伝子変異の同定のみならず、発症機序解明を目指した動物モデルによる遺伝子変異機能解析も進めている。さらに、非モデル生物のゲノム解析として、衛生動物である南西諸島のハブを対象にした研究も進めている。さらに近年は、潰瘍性大腸炎のバイオーム解析にも参画している。

A. 神経疾患の分子基盤の解明

a. 痙性対麻痺 10 型の分子診断と遺伝子発現解析

愛媛大学で見出された痙性対麻痺の家系に対して、エクソームシーケンシングにより、責任変異の同定を行った。常染色体優性遺伝を想定して、発端者からヘテロ接合の非同義 SNV (Single Nucleotide Variant) を約 2 万個同定した。これまでに知られていた家族性痙性対麻痺の既知責任遺伝子セット 17 個を探索した結果、*KIF5A* 遺伝子の第 24 エクソンにナンセンス変異 (NM_004984.4:c.2590C>T; p.Arg864Ter) を見出した。この変異はこれまでに、ギリシアの 1 家系でのみみつかっていた。当該患者の末梢血の RNA シーケンスで、*KIF5A* の遺伝子発現が有意に減少していることも確認し、本家系の痙性対麻痺の責任遺伝子変異と結論した (Miura et al 2025)。

b. 先天性白内障を伴う痙性対麻痺家系の遺伝解析

遺伝性痙性対麻痺は多数の責任遺伝子が報告されているヘテロな疾患であるが、先天性白内障を併発する希少なタイプがあることが知られており、これまでに *FAR1*, *ALDH18A1*, *GBA2* の 3 つの遺伝子が知られていた。愛媛大学で見出された先天性白内障を伴う若年性痙性対麻痺の家系に対して、エクソームシーケンシングによる責任変異の探索を行なった。その結果上記 3 遺伝子には有害バリエーションが見つからなかったが、先天性白内障の既知遺伝子の 1 つである *PAX6* の exon3 に希少な非同義変異 (NM_001310159, c.76C>T: p.R26W) をヘテロ接合で持つことを見出した。サンガーシーケンスにより発端者 (Ⅲ-3) と娘 (Ⅳ-3) は当該変異を共有していることを確認し、家系図から想定される常染色体優性遺伝と一致した。当該変異は *PAX* ドメインの中に位置しており、機能予測アルゴリズムにより *PAX6* 遺伝子産物の機能に重大な影響を与えることと判定できた (CADD = 29)。また、患者

両名の末梢血の RNAseq から、アポトーシスやカルシウムイオン制御に関わる遺伝子群に有意な発現変動が見られた。PAX6は目や脳の発生に必須な転写因子として広く知られ、ノックアウトマウスの実験から小脳の形成にも必須であることが報告されているが、ヒトにおいて痙性対麻痺を含む神経疾患との関連はこれまで報告されておらず、本家系が PAX6 変異による遺伝性神経疾患の最初の例となる可能性が示された（論文投稿中）。

B. 毒生物のオミクス解析

生物毒は、生理活性物質の新たな創薬シーズとして、近年大変注目を浴びている。当研究室では、日本独自の創薬シーズ開発を目指して日本固有の毒蛇ハブ（*Protobothrops flavoviridis*）を対象に、オミクス解析及び遺伝的多様性の解析を行っている。

a. ハブ毒線における毒タンパク質遺伝子発現機構の研究

これまでのゲノム解析からハブの毒液を構成する 60 種の毒タンパク質（SV（snake venom））遺伝子を同定していた（Shibata et al; 2018; Ogawa et al 2019）。これらの遺伝子の毒腺における発現調節機構の全容解明を目指した研究を進めている。まず毒腺を含む 20 組織の RNAseq から、毒腺特異的に発現している転写因子のセット 17 個を同定した。さらにそのうちすでに一部の SV 遺伝子領域との相互作用が知られていた ETS（Erythroblast transformation-specific）転写因子ファミリーの 3 種の転写因子（ESE1-3）に着目し、毒タンパク質遺伝子の発現活性化能を、ルシフェラーゼアッセイにより検討した。その結果、ESE3 は検討した 7 種すべての SV 遺伝子の転写を活性化することを確認した。対照的に、ESE1 および ESE2 特定の SV 遺伝子のみを活性化した。このことから ESE3 は SV 遺伝子を全般的に発現活性化する基盤因子であること、および ESE1 と ESE2 は、より遺伝子特異的な発現活性化に関わっていることがわかった。

業績目録

原著論文

1. Miura S., Suenaga S., Goto H., Wang Z., Makino A., Fan L., Senzaki K., Ochi M., Ohyagi Y., Shibata H. (Jun 2025)
A Japanese hereditary spastic paraplegia patient with a rare *KIF5A* nonsense variant.
Hum Genome Var. 12: 11.

学会発表

1. Zhaonan Wang, Yinrui Sun, Hitomi Nakamura, Naoko Oda-Ueda, Hiroki Shibata. (2025/8/28-29)
Comparative study of transactivational effects by epithelium specific ETS transcription factors on venom

protein genes from the Habu snake (*Protobothrops flavoviridis*). (口頭発表)

第 71 回トキシシンポジウム, ハートピア熱海.

2. Hiroki Shibata. (2025/9/25-27)

Chromosome-scale genome assembly of a Japanese endemic pit viper, habu, *Protobothrops flavoviridis* reveals evolutionary history of venom protein genes. (招待講演)

第 36 回日本生体防御学会学術総会, シンポジウム「巳年に紐解く 蛇(毒)のサイエンス」, 熊本大学病院.

3. Hiroki Shibata. (2025/11/03-05)

Chromosome-scale genome assembly of a Japanese endemic pit viper, habu, *Protobothrops flavoviridis* reveals evolutionary history of venom protein genes. (招待講演)

第 98 回日本生化学会大会, シンポジウム「巳年企画:へびの魅力に迫る研究の最前線 - へびの発生・進化から毒の不思議まで」, 国立京都国際会館.

4. 藤岡 竜太, 岡本 昭, 森川 拓弥, 範 駱鳴, 三浦 史郎, 柴田 弘紀. (2025/12/3-5)

興奮性アミノ酸による PC-12 細胞の神経突起伸長への効果. (ポスター発表)

第 48 回日本分子生物学会年会, パシフィコ横浜.

5. 孫 崑瑞, 山口 和晃, 千々岩 崇仁, 上田 直子, 工樂 樹洋, 小川 智久, 柴田 弘紀. (2025/12/3-5)

毒蛇ハブの染色体アセンブリから明らかになった、毒タンパク質遺伝子クラスター構造. (ポスター発表)

第 48 回日本分子生物学会年会, パシフィコ横浜.

研究推進ユニット 先端研究開発室（構造生物学グループ）

Advanced Research Initiative, Research Promotion Unit

准 教 授：嶋田 睦

Associate Professor : Atsushi Shimada, Ph.D.

エンドサイトーシスや細胞遊走などの生命現象は細胞膜の変形や細胞骨格の再編成を伴うダイナミックな生命現象であり、外界からの刺激を細胞の形態変化につなげるシグナル伝達経路によって制御されている。本研究室ではこれまで X 線結晶構造解析や生化学的手法を用いて経路の構成タンパク質の構造や機能を解明することで、真核細胞の活動を支えるこれらの生命現象の巧妙な仕組みの理解を目指して研究を進めてきた。最近、電子顕微鏡を用いた脂質二重膜中の膜タンパク質の新規イメージング/構造解析技術も開発し、創薬標的を含む様々な膜タンパク質への応用を進めている。

2025 年度は嶋田睦と湯通堂紀子 (特任助教) の 2 名で研究を推進した。また科学研究費補助金 基盤研究(C)、大学初新産業創出基金事業 スタートアップ・エコシステム 共創プログラム「PARKS スタートアップ創出プログラム ステップ 2-1」などの支援を受け研究を推進した。

A. 膜タンパク質からの新規の構造情報取得技術の研究開発

これまでに脂質二重膜中で膜タンパク質を電子顕微鏡により簡便にイメージングし、構造情報が取得できる手法を開発し、その研究開発と種々の膜タンパク質への応用を進めてきた。この手法は試料への要求性が低く、低濃度、少量の膜タンパク質試料についても簡便にイメージングし、構造情報を取得することができるという利点がある。一方、クライオ電子顕微鏡による高分解能構造解析においては一般に、1-5 mg/ml という高濃度かつ高純度の試料が必要であるが、収量が低いことや、膜タンパク質自体の性質によって濃縮が困難な試料も多い。また収量が低い場合には、アフィニティー精製までしかできず、高純度を達成できない試料も多い。当研究室で開発した技術では試料への要求性が低いことから、クライオ電子顕微鏡による構造解析にこの技術を適用することで、膜タンパク質の高分解能構造解析における上記の問題を解決できると考え、この技術のクライオ電子顕微鏡による高分解能解析への適用を進めてきた。

前年度までに、収量が少なくアフィニティー精製までしかできず、また濃縮が困難で 0.03 mg/ml の濃度までしか濃縮できず、既存手法では構造解析できない 1 種類の膜タンパク質複合体については中分解能での構造解析に成功し、この技術の既存技術に対する有用性を確認できた。今年度はモデル膜タンパク質である AcrB を用いた解析を、理化学研究所の伊藤拓宏チームディレクターのグループとの共同研究や、技術移

転先の国内受託解析企業で行った。その結果、両者においてクライオ電子顕微鏡データの取得に成功し、さらに伊藤拓宏チームディレクターのグループでは、中分解能での整合性のある密度マップも取得できた。前年度までに成功していた膜タンパク質複合体のケースに続き、整合性のある密度マップが取得できた 2 例目となることから、この手法の汎用性を確認できた。今後本技術を用いた高分解能構造解析を迅速に成功させ、生物学上、また創薬上重要な膜タンパク質の構造解析を推進予定である。

業績目録

学会発表

1. 嶋田 睦. (2025/5/20)
脂質二重膜中の膜タンパク質の高分解能イメージング/構造解析技術の事業化. (口頭発表)
PARKS Demo Day 2025, 福岡.
2. 嶋田 睦. (2025/5/20)
脂質二重膜中の膜タンパク質の高分解能イメージング/構造解析技術の事業化. (ポスター発表)
PARKS Demo Day 2025, 福岡.
3. 嶋田 睦. (2026/2/12)
脂質二重膜中の膜タンパク質の高分解能イメージング/構造解析技術の事業化. (口頭発表)
PARKS Demo Day 2026, 福岡.
4. 嶋田 睦. (2026/2/12)
脂質二重膜中の膜タンパク質の高分解能イメージング/構造解析技術の事業化. (ポスター発表)
PARKS Demo Day 2026, 福岡.

研究推進ユニット 先端研究開発室（脳機能制御学グループ）

Advanced Research Initiative, Research Promotion Unit

助 教：土本 大介

Assistant Professor : Daisuke Tsuchimoto, Ph.D.

生物の遺伝情報はゲノム DNA が保持し、遺伝情報発現のために RNA が合成される。この DNA や RNA、およびその前駆体であるヌクレオチドは、酸素呼吸の過程で必然的に発生する活性酸素や生体防御のために生体が能動的に産生する活性酸素などによって損傷を受ける危険に常に曝されている。損傷を受けた核酸やヌクレオチドは修復、除去されないと突然変異誘導や正常な核酸／ヌクレオチドの機能阻害を引き起こすことでさまざまな疾患の原因となる。

本グループでは、核酸やヌクレオチドの損傷体が引き起こす障害とその防御機構について研究している。

A. ほ乳動物におけるイノシン三リン酸生合成にグアニル酸キナーゼ 1 が必須であることを解明

イノシン三リン酸分解酵素 (ITPA) の欠損は非正規ヌクレオチドであるイノシン三リン酸 (ITP) の蓄積によるヒト発達性およびてんかん性脳症 3 5 (DEE35) 発症の原因となる。DEE35 はてんかん発作や小頭症、発達遅延を伴う重篤な脳症であり、拡張型心筋症を伴うこともある。DEE35 患者のほとんどは生後数年以内に死亡する。

我々は今までにマウスモデルを用いて、ITPA 欠損により蓄積した ITP がミオシンと ATP の結合を競合阻害することで拡張型心筋症を引き起こし、脳神経では神経細胞の膜電位を脱分極させることでてんかん発作を引き起こすことを論文で報告してきた。その後マウス神経芽腫由来細胞 Neuro2a *Itpa* 遺伝子欠損株を用い、ITP 生成に必須な遺伝子を探索してグアニル酸キナーゼ 1 遺伝子 (*Guk1*) を同定した (未発表)。上記 *Itpa* 遺伝子欠損株において *Guk1* 発現を抑制すると RNA 中のイノシン (ITP が RNA 合成時に取り込まれて蓄積したもの) が顕著に減少した。今年度は脳神経特異的に ITPA を欠損した DEE35 モデルマウス (*Itpa* cKO マウス) を用いて *Guk1* KO マウスと交配することで *Itpa* cKO / *Guk1* (+/-) マウスを作成した。本マウスは *Itpa* cKO マウスと比べて大脳皮質 RNA 中イノシンが有意に減少し、寿命が延長した。このことは GUK1 がヒト DEE35 の治療標的と成り得ることを示している。現在本研究成果について論文投稿中である。

B. *Guk1* 遺伝子ヘテロ欠損動物の表現型解析

上述の ITPA 欠損マウスにおける GUK1 の役割の解析の中で ITPA 正常マウスにおいて *Guk1* haplo-insufficiency (*Guk1* +/- マウス) が体重減少をもたらすことを発見した (論文投稿中)。このマウスの大脳皮質では予想通りに GUK1 タンパク質発現が半分程度に低下していた。2024 年に *GUK1* 遺伝子両アレルに変異を持ち GUK1 タンパク質発現レベルが半分以下に低下した患者 4 例

が報告されその患者達は低体重と筋萎縮、肝臓機能異常などを示しミトコンドリア DNA 涸渇症と診断された。これらのケースの様に *GUK1* 遺伝子両アリルに変異を持つケースは稀だと考えられるが、我々の *Guk1* +/- マウスの低体重の結果は *Guk1* 遺伝子片アリルの変異のみでミトコンドリア DNA 欠乏症をもたらす可能性を強く示しておりヒトで同様の患者が相当数存在する可能性がある。現在 *Guk1* +/- マウスの詳細な解析を進めている。

C. DNA, RNA, 遊離ヌクレオシドに対する X 線照射によって生じる修飾プリン塩基の解析

電離放射線照射の核酸に対する影響を網羅的に解析するために、単離 DNA, RNA, および遊離ヌクレオシドに X 線を照射し、プリン塩基部分における修飾産物を中心に HPLC-PDA および LC-MS/MS を用いて定量的に解析した。その結果、プリン塩基損傷が主に水分子への照射で生じる活性酸素との反応が原因と考えられることや、塩基によって DNA 中、RNA 中、遊離ヌクレオシドで反応性が変わるものと変わらないものがあることがわかった。また産物によっては更に X 線照射による影響を受けて分解してしまうため、比較的安定な産物の方が照射の影響のモニタリングに適していることが明らかとなった。現在本研究成果について論文投稿中である。

業績目録

今年度の学会発表および論文発表はなし。